

УДК 577.15

Маг. А. Ю. Камаева
Рук. В. В. Юрченко, Л. П. Ларионов
УГЛТУ, Екатеринбург

ИММОБИЛИЗАЦИЯ АМИЛАЗЫ НА РАЗЛИЧНЫХ НОСИТЕЛЯХ

Ферменты и ферментативные системы находят применение во многих областях науки и техники. Они используются в пищевой и фармацевтической промышленности, в медицине, активно применяются в сельском хозяйстве, химическом синтезе и т.д. Однако широкое распространение ферментативных процессов осложняется следующими причинами: во-первых, устойчивость ферментов при хранении сильно зависит от различных воздействий, особенно тепловых; во-вторых, затруднительно многократное использование ферментов из-за сложности их выделения из реакционной среды [1, 2].

На сегодняшний день одним из основных путей решения этих проблем является создание ферментных препаратов, представляющих собой ферменты, связанные на нерастворимых носителях. Такие ферментативные препараты принято называть иммобилизованными ферментами.

Иммобилизованные ферментные препараты легко отделить от реагентов и продуктов реакции, что дает возможность: а) приостанавливать или завершать химический (биохимический) процесс; б) повторно использовать ферментативный препарат; в) получать очищенный от фермента продукт.

Использование иммобилизованных ферментных препаратов обеспечивает следующие технологические возможности [3, 4]:

- простое отделение от реагентов и продуктов реакции;
- использование в непрерывных процессах;
- целенаправленное влияние на их конечные свойства.

Для установления эффективности сорбции амилосубтилина на активном угле были проведены сорбционные эксперименты.

Реактивы: активный уголь, древесный уголь, ионообменные смолы, монтмориллонит; раствор амилосубтилина с концентрацией 2 г/л.

Сорбционный эксперимент проводили по следующей методике.

1. Готовили модельные растворы фермента 2 г/л с помощью разбавления сухой навески амилосубтилина в дистиллированной воде.

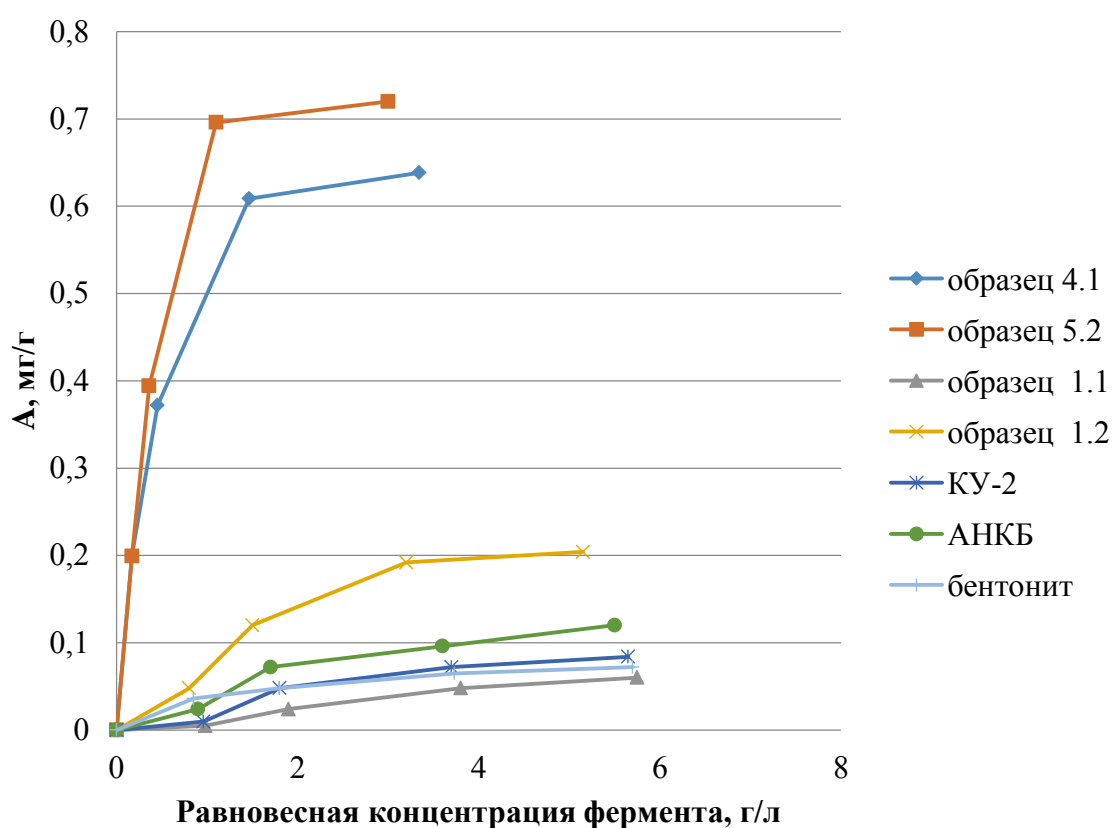
2. Задавали в диапазоне от 4,6 до 4,8 рН модельных растворов. Регулировали рН с помощью ацетатного буферного раствора. Изменения рН фиксировали рН-метром (мультитест).

3. Отбирали по 100 мл раствора в мерные стаканы и при интенсивном перемешивании во флокуляторе вносили в раствор определенную дозу носителя для иммобилизации.

4. Интенсивное перемешивание продолжали 5 мин до полного распределения адсорбента в объеме раствора. Затем интенсивность перемешивания уменьшали до уровня поддержания раствора во взвешенном состоянии, время перемешивания составляло 20 мин.

5. По истечении 30 мин раствор отстаивали в течение 15 мин, затем декантировали и фильтровали.

6. Исследовали остаточную концентрацию фермента в растворе. Все изотермы адсорбции представлены на рисунке.



Изотермы адсорбции для различных коллоидных носителей:

- образец 1.1 – осиновый древесный уголь;
- образец 1.2 – осиновый активный древесный уголь;
- образец 4.1 – березовый активный уголь;
- образец 5.2 – березовый окисленный уголь

В результате анализа изотерм адсорбции и исследования активности фермента на их поверхности получены данные, представленные в таблице.

Количество иммобилизованной амилазы и ее активность

Носитель	Количество иммобилизованной амилазы, мг/г	Процент сохранения активности, %
Образец 1.1	50 ± 15	18–22
Образец 1.2	200 ± 30	8–12
Образец 4.1	600 ± 30	< 5
Образец 5.2	700 ± 30	< 5
КУ-2	70 ± 10	52–55
АНКБ	110 ± 10	65–75
Бентонит	70 ± 10	25–30

Количество иммобилизованной амилазы не говорит о том, что она сохраняет высокую активность на носителе. По нашему мнению, наибольшей активностью обладает фермент, расположенный на поверхности адсорбента. Ферменты, попавшие во внутреннее пористое пространство адсорбента, не участвуют в процессе гидролиза крахмала.

Больше всего иммобилизованной амилазы на активном угле 2, но процент сохранения активности данный образец имеет самый низкий. Лучше всего амилаза сохраняет свою активность на ионообменной смоле КУ-2. Для смол характерна адсорбция на поверхности ионитов, и амилаза сохраняет довольно высокую активность.

В работе рассмотрена возможность создания ферментативных препаратов на различных коллоидных носителях. Для создания матричных ферментов возможно использовать древесные угли и высокодисперсные алюмосиликаты на основе бентонитовых глин.

Библиографический список

1. Бейли Дж., Оллис Д. Основы биохимической инженерии / пер. с англ.: в 2 ч. – Ч. 1. – М.: Мир, 1989. – 696 с.
2. Шмидт Ф. К. Физико-химические основы катализа. – Иркутск: Иркутский ун-т, 2004. – 402 с.
3. Бирюков В. В. Основы промышленной биотехнологии. – М.: КолосС, 2004. – 296 с.
4. Иммобилизованные ферменты / И. В. Березин, Н. Л. Клячко, А. В. Левашов и др. – М.: Высш. шк., 1987. – 159 с.: ил.